

**P116****STUDIO DI UN METODO RAPIDO MEDIANTE RIDUZIONE DI XTT PER LA DETERMINAZIONE DELLA RESISTENZA IN *M. TUBERCULOSIS***Saddi M.<sup>a</sup>, Sanna C.<sup>a</sup>, Borgna R.<sup>a</sup>, Sanna A.<sup>a</sup>, Saddi B.<sup>c</sup>, De Logu A.<sup>a</sup><sup>a</sup>Sezione di Microbiologia Medica, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biomediche, Università di Cagliari, Viale Sant'Ignazio 38, 09123 Cagliari  
<sup>c</sup>Laboratorio di Analisi Ospedale SS. Trinità, Cagliari

Fino a qualche anno fa la tubercolosi era ormai considerata una malattia a basso rischio epidemiologico. Attualmente, a causa della rapida insorgenza di mutanti farmaco-resistenti di *Mycobacterium tuberculosis*, questa malattia desta preoccupazione. I metodi attualmente disponibili per la determinazione della farmaco-resistenza presentano alcuni svantaggi. Il metodo proporzionale, approvato dal NCCLS, è un saggio semplice e poco costoso. Tuttavia, la sensibilità può essere determinata solo dopo 3 settimane di incubazione. Il metodo radiometrico che prevede l'utilizzo del Bactec, produce risultati entro 5-10 giorni, ma comporta rischi aggiuntivi quali la manipolazione di radioisotopi. L'uso di altre tecniche come l'identificazione dei geni che conferiscono resistenza nei confronti di farmaci antitubercolari, non è sempre possibile in quanto richiede personale specializzato. Abbiamo analizzato l'utilità di un metodo colorimetrico basato sulla riduzione del sale di tetrazolio XTT [2,3-bis (2-metossi-4-nitro-5-sulfonil)-5-(fenilamino)carbonil-2H tetrazolio] per testare la sensibilità di isolati clinici di *M. tuberculosis* all'isoniazide, rifampicina e streptomina. Con l'impiego di XTT la sensibilità alla rifampicina viene determinata dopo 3 giorni di incubazione, mentre sono richiesti 6 e 8 giorni per la determinazione della sensibilità rispettivamente a streptomina e isoniazide. Inoltre rispetto ad altri metodi colorimetrici, quali per esempio quello basato sull'impiego di MTT, la cui determinazione prevede la lisi cellulare, la riduzione di XTT porta alla formazione di un prodotto solubile per la cui determinazione quantitativa non sono necessari ulteriori trattamenti con solventi chimici e consente la determinazione della sensibilità e resistenza alla maggior parte dei farmaci antitubercolari. I risultati ottenuti confermano la validità del metodo colorimetrico per la determinazione rapida della antibiotico-resistenza negli isolati clinici di *M. tuberculosis*. Inoltre, presenta significativi vantaggi rispetto alle altre tecniche disponibili sotto il profilo economico e la sua semplicità di esecuzione ne consente l'impiego anche in Paesi in via di sviluppo nei quali è localizzato il maggior numero di persone affette da tubercolosi.

**P117****CONSIDERAZIONI SULL'USO DELLA PCR NELLA DIAGNOSTICA TUBERCOLARE DI MATERIALI NON RESPIRATORI**

Santoro G., Falca M., Sabatino R., Cione P.

UOC Microbiologia - Dipartimento di Medicina di Laboratorio ed Anatomia Patologica  
A.O. Monaldi Via L.Bianchi Napoli**Obiettivi** Scopo del lavoro è stato valutare l'opportunità di

effettuare la ricerca di *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTC), utilizzando la tecnica di amplificazione genica in PCR, anche per i materiali di provenienza non respiratoria, pur se essa è validata esclusivamente per i materiali respiratori. Nell'anno 2003, abbiamo analizzato, 161 campioni di provenienza non respiratoria (129 liquidi pleurici e 30 campioni di pus, biopsia o tessuto linfonodale, liquido pericardico e urine) per la diagnosi rapida di tubercolosi.

**Metodologia** Tutti i campioni non respiratori sono stati sottoposti ad esame batterioscopico diretto per la ricerca di bacilli alcol-acido resistenti, a valutazione diretta in PCR del *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTC) e ad esame culturale.Un'aliquota del campione decontaminato è stata sottoposta ad amplificazione genica in PCR per la determinazione qualitativa di *M. Tuberculosis complex* con il sistema Cobas Amplicor della Roche che prevede l'uso di una strumentazione automatica per l'amplificazione e la rivelazione. In quest'ultimo caso, qualora non saggiati nelle 24h, i campioni sono stati congelati a -80°C. In tale metodica è sempre stato utilizzato un controllo interno intralaboratorio oltre ai controlli positivo e negativo proposti dalla ditta produttrice; i campioni che, alla prima determinazione, hanno mostrato la presenza di inibitori, sono stati diluiti 1:2 o 1:5.

Le colture positive sono state identificate con sonde costituite da DNA a catena singola complementare di una sequenza nucleotidica del genoma batterico che è specie-specifica (rRNA) ed è coniugata ad un marcatore chemiluminescente (Accuprobe Biomerieux).

**Risultati:** Correlando la positività del test di amplificazione alla positività culturale per MTC abbiamo osservato che dei 14 campioni risultati positivi all'amplificazione genica solo 9 trovavano conferma della positività nell'esame batterioscopico diretto o nell'esame culturale mentre 5 si associavano ad esame batterioscopico diretto ed esame culturale negativo. Di contro, abbiamo osservato solo 4 campioni che associavano amplificazione genica negativa ed esame culturale positivo per MTC.**Conclusioni** I risultati su esposti, in una valutazione costi/beneficio, ci inducono a proseguire in tale direzione; infatti nel 50% dei casi esaminati è stato possibile fare diagnosi di tubercolosi nell'arco delle 24-48h. Ci pare altresì opportuno ripetere queste valutazioni alla luce di un maggior numero di campioni e nell'ambito di campioni omogenei.**P118****VALUTAZIONE DEL SISTEMA BD PROBETEC ET PER LA DIAGNOSI RAPIDA DI MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX**Zara F.<sup>1</sup>, Troupioti P.<sup>2</sup>, Brerra R.<sup>1</sup>, Migliavacca R.<sup>1</sup>, Nucleo E.<sup>1</sup>, Spalla M.<sup>1</sup>, Cardillo A.<sup>3</sup>, Giacobone E.<sup>3</sup>, Asticcioli S.<sup>1</sup>, Pagani L.<sup>1</sup>, Romero E.<sup>1</sup><sup>1</sup>Dip. SMEC-Sez. Microbiologia, Università di Pavia<sup>1</sup><sup>2</sup>Lab. An. Chim. Clin. e Microbiologia, AO "E. Morelli", Sondalo (SO)<sup>3</sup>Serv. An. Microb. IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia**Obiettivi** valutare l'utilità, la sensibilità e la specificità del sistema molecolare automatico BD ProbeTec ET (DTB) (Becton Dickinson) in parallelo con i metodi diagnostici tradizionali ed il sistema automatico Bactec MGIT 960 (Becton Dickinson).**Metodologia** 132 campioni respiratori, raccolti da pazienti ospedalizzati ed ambulatoriali presso l'Azienda Ospedaliera "E. Morelli" di Sondalo nel periodo Settembre-Novembre 2002 e selezionati in base al sospetto clinico di TBC, sono stati valutati mediante esame batterioscopico, coltura in Lowenstein-Jensen e MGIT 960, dopo decontaminazione